

Plaquetas

Platelets

Bermejo E



**ARTÍCULO
DE REVISIÓN**

*Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex".
Academia Nacional de Medicina de Bs As, Dpto. de Hemostasia y Trombosis.*

emilse1950@hotmail.com

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 10-18
Fisiología de la hemostasia normal
Agosto 2017

Palabras claves: plaquetas,
morfología plaquetaria,
mecanismos y función plaquetaria.

Keywords: platelets,
platelet's morphology,
signaling and platelet function.

Las plaquetas son partículas celulares esenciales para el normal desarrollo de la hemostasia y cumplen un rol protagónico en los desórdenes tanto trombóticos como hemorrágicos. Las plaquetas tienen su origen en la fragmentación citoplasmática del megacariocito. Su estructura, sistema metabólico y mecanismos de señalización regulan su fisiología. La participación de las plaquetas en numerosas funciones fisiológicas y la sencilla manera de obtención para su estudio, han fundamentado su uso como modelo experimental de gran utilidad en biología celular.

Formación de plaquetas

Aunque se ha aceptado universalmente que las plaquetas derivan de los megacariocitos, los mecanismos por los cuales se forman y se liberan siguen siendo controvertidos. En la fase final de la megacariocitopoyesis, una vez alcanzada la ploidía definitiva, se produce la maduración del citoplasma me-

gacariocítico, que dará lugar, mediante el proceso de la trombocitopoyesis, a la formación y liberación de plaquetas.

Estructura de la plaqueta en reposo

Las plaquetas circulan en forma de lente biconvexa (lenticular), se encuentran en una concentración que oscila entre 150 a 400 células x 10⁹/L y tienen un tamaño de 0,5 a 2,5 µm. El volumen plaquetario medio fluctúa entre 7 a 9 fL.

La ultraestructura plaquetaria está subdividida en tres partes topográficas relacionadas con su función:

- a) membrana plaquetaria (intra y extra celular)
- b) gránulos y organelas intracitoplasmáticos (secreción plaquetaria)
- c) citoesqueleto (proteínas motoras).

a) Membrana plaquetaria (intra y extra celular)

La función plaquetaria principal es mantener la integridad vascular y frenar el sangrado. Para el desa-

rollo de esta función, la superficie plaquetaria juega un rol crucial de contacto, primero asegurando la adhesión a los componentes del subendotelio expuesto y luego favoreciendo la agregación y formación del trombo plaquetario. La plaqueta está rodeada por una membrana plasmática que se extiende a través de múltiples ramificaciones del sistema canalicular conectado a la superficie (SCCS).

A nivel de microscopía electrónica, la membrana plaquetaria tiene un espesor de 20 nm y aparece como una unidad trilaminar de membrana formada por dos hojas densas separadas por un espacio constante. Al igual que otras membranas biológicas, está compuesta por proteínas y lípidos, principalmente fosfolípidos y colesterol. El glicocáliz o cubierta plaquetaria está formado por cadenas de oligosacáridos provenientes de glicolípidos, glicoproteínas de membrana (GPs) y cadenas de polisacáridos provenientes de proteoglicanos de membrana. Además, proteoglicanos plasmáticos y proteínas tales como la albúmina y el fibrinógeno forman parte del glicocáliz y son incorporados por adsorción. La asociación entre la membrana plaquetaria y los depósitos de proteínas plasmáticas constituye la primera línea de interacción de la plaqueta con su entorno y participa activamente en el proceso de endocitosis y almacenamiento de proteínas plasmáticas en los gránulos de secreción. El glicocáliz es responsable de la carga negativa en la superficie plaquetaria, que provoca la repulsión de interacciones “no deseadas” con otros elementos de la pared vascular o de la circulación sanguínea.

Las invaginaciones de la membrana plaquetaria dan origen a un sistema de canales y canaliculos que forma una extensa malla dentro del volumen citoplasmático. En esa superficie invaginada, el glicocáliz está menos desarrollado; un ejemplo de ello es la presencia mínima de la glicoproteína Ib (GP Ib) comparada con la existente sobre la superficie celular. Además, las cadenas glicosiladas de las moléculas descritas constituyen un bloqueo del SCCS, formando un filtro que controla la entrada de proteínas plasmáticas.

Mediante microscopía electrónica se ha analizado la distribución y la funcionalidad de las GPs en la superficie y a nivel intracelular, de las cuales las más relevantes son:

a- El receptor de adhesión formado por un complejo de tres GPs (GP Ib, GP IX y GP V; denomi-

nado GP Ib-IX-V) es el receptor de unión de la superficie plaquetaria al subendotelio, mediante el factor von Willebrand (VWF) y la trombina. **El complejo GP Ib-IX-V es considerado el más importante de los receptores implicados en la adhesión.** La inmunomarcación de los tres componentes de este complejo indica su presencia sobre toda la superficie de las plaquetas en reposo, ocasionalmente en el sistema canalicular y existe entre un 5 a 10% del total de marcación inmunocolocalizado con el VWF en las membranas granulares.

La conexión del complejo con la malla de actina se produce a través de una proteína de unión a actina (ABP) y es particularmente importante en la modulación del mecanismo de adhesión.

b- **La GP VI es el receptor para colágeno más importante**, está comprometido en los eventos tempranos de la función plaquetaria y participa en la activación y la agregación inducida por colágeno.

c- **El complejo GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) es el principal receptor en la agregación plaquetaria**, su función principal es la de unir fibrinógeno y, en condiciones de alto *shear rate*, al VWF. Este complejo se encuentra homogéneamente distribuido sobre la superficie y en la membrana del SCCS. Estudios realizados por inmunomarcación han demostrado la presencia de depósitos internos ubicados en la membrana externa de los gránulos α que representan una cantidad mayor al 30% de GP IIb-IIIa. La función más importante de este *pool* interno es la incorporación y almacenamiento del fibrinógeno plasmático en los gránulos α .

d- **La GPIV (CD36) está involucrada en las propiedades de adhesión y agregación plaquetaria.** Funciona como receptor de colágeno tipo II y de trombospondina y participa en la transducción de señales. Por microscopía electrónica se ha detectado GP IV sobre la superficie plaquetaria, en el sistema canalicular y en la membrana de los gránulos α .

e- El complejo GP Ia-IIa ($\alpha_2\beta_1$) une colágeno, mientras que GP Ic-IIa y GP Ic * -IIa ($\alpha_5\beta_1, \alpha_6\beta_1$) unen laminina y fibronectina, respectivamente. Otra forma de GP Ia-IIa, es el complejo $\alpha_3\beta_3$ que está presente sobre la superficie en muy baja

concentración (aproximadamente 100 copias por plaqueta) y una proteínas adhesivas tales como fibrinógeno, fibronectina y VWF.

- f- La molécula de adhesión endotelio-plaqueta (PECAM-1) y el CD9 son componentes del plasma, de las membranas del sistema canalicular y, en menor proporción, de la superficie de los gránulos α . El CD9 actúa como receptor para fibronectina y podría estar comprometida en la funcionalidad del receptor para factores de crecimiento. El PECAM-1 es una molécula de adhesión asociada con el citoesqueleto de las plaquetas activadas y también se expresa en las células endoteliales.

b) Gránulos y organelas intra-citoplasmáticas / secreción

Sistema tubular denso.

Este sistema se origina a partir del retículo endoplasmático del megacariocito y está compuesto por canales ubicados cerca de las cisteínas del SCCS. Contiene varias enzimas activas, tales como Ca^{2+} -ATPasas y ciclooxigenasa 2 (COX-2).

Gránulos de secreción.

Las plaquetas contienen cuatro tipos de gránulos citoplasmáticos clasificados de acuerdo a su ultraestructura, densidad y contenido: los gránulos α , los gránulos densos, los lisosomas y los peroxisomas.

Gránulos α

Los gránulos α son los más prominentes y los que se encuentran en mayor número, aproximadamente entre 50 a 80 por plaqueta. Se forman durante la maduración temprana de los megacariocitos y aparecen en la malla trans-Golgi en forma de pequeñas vesículas y de gránulos inmaduros que transitan a

través de cuerpos multivesiculares hasta alcanzar su tamaño y densidad definitiva.

Morfología.

Los gránulos maduros son generalmente redondos u ovoides, su diámetro es de 200 a 500 nm y están rodeados por una unidad de membrana. La ultraestructura es muy característica, la matriz puede dividirse en tres zonas con diferentes densidades. En la zona nucleoide oscura se observa co-localización de proteoglicanos con proteínas plaquetarias específicas tales como la β -trombomodulina y el factor plaquetario cuatro (PF4). La zona clara, localizada en la periferia y en forma opuesta a la anterior, contiene una a cinco estructuras tubulares de 20 a 25 nm, regularmente espaciadas y alineadas. En estas estructuras se observa colocalizado el VWF en su forma multimérica de alto peso molecular. Finalmente, una tercera zona intermedia está asociada con la marcación para fibrinógeno, trombospondina, albúmina y factores de crecimiento.

Contenido.

Los gránulos α contienen proteínas adhesivas, factores de crecimiento, inhibidores de proteasas, proteoglicanos e inmunoglobulinas. En la **Tabla 1** se muestra una clasificación de acuerdo a su funcionalidad.

La membrana de los gránulos α contiene diferentes receptores moleculares, cuyos sitios de reconocimiento a ligandos están orientados hacia su lado interno. Algunos como la P-selectina, la osteonectina y el GMP33 son receptores específicos y están ausentes en la membrana plasmática de la plaqueta en reposo. En particular, la P-selectina es indicadora de activación plaquetaria cuando se la encuentra expresada en la superficie celular.

Tabla 1. Contenido de los gránulos alfa

Categorías	Contenido de α gránulo	Funciones
Proteínas adhesivas	VWF + pro-péptido, Fg, Fn, Vn, TSP-1, TSP-2, laminina-8	Interacciones de contacto celular, hemostasia primaria y constituyentes de la matriz extracelular
Factores de la coagulación y sus inhibidores	Factor V/Va, factor XI, multimerina, proteína S, HMWK, proteasa, nexina-1 y -2, TFPI, inhibidor de proteína C, gas6	Generación de trombina, formación del coágulo y proliferación de la matriz extracelular
Factores fibrinolíticos y sus inhibidores	Plasminógeno, PAI-1, u-PA, α 2-antiplasmina, TAFI, α 2-macroglobulina	Producción de plasmina y remodelación vascular
Proteasas y antiproteasas	MMP-1, -2, -4, -9, ADAMTS13, ADAMS10, ADAMS17 (TACE), TIMPs 1-4, inhibidor plaquetario del FIX, C1 inhibidor, α 1-antitripsina.	Angiogénesis, regulación de la coagulación y de mecanismos celulares

Categorías	Contenido de α gránulo	Funciones
Factores de crecimiento y mitogénicos	PDGF (A, B y C), EGF, IGF-1, VEGF (A y C), bFGF (FGF-2), HGF, BMP-2, -4, -6, CTGF, SCUBE1, IGFBP3	Quimiotaxis, proliferación celular y angiogénesis
Quimioquinas, citoquinas y otros	TGF- β 1 y - β 2, IL-1, RANTES (CCL5), IL-8, MIP-1 α , MIP-2, GRO- α , MCP-1, MCP-3, PF4, β -TG, NAP-2, angiopoyetina-1, HMGB1, IL-6sR, endostatina, osteonectina, dickkopf-1, osteoprotegerina	Regulación de angiogénesis, quimiotaxis, interacción celular, remodelación vascular
Proteínas antimicrobianas	Trombocidinas, quinocidinas	Bactericida y fungicida
Glicoproteínas de membrana	aIIbb3, avb3, GPIb, PECAM-1, constituyentes de la membrana plasmática, receptores para agonistas primarios, P-selectina, TLT-1, CD63, CD40L, TF, TRAIL, furina, cellubrevina, syntaxina-2, clatrina	Adhesión y agregación plaquetaria, endocitosis de proteínas, secreción, inflamación, generación de trombina, interacción plaqueta-leucocito y plaqueta pared vascular
Otras	4-sulfato de condroitina, albúmina, inmunoglobulinas G y M, precursor de amiloide b proteína, factor H de complemento, semaforin 3A.	Varias

Gránulos densos (cuerpos densos)

Morfología. Los gránulos densos reciben este nombre por su opacidad natural en las tinciones con tetróxido de osmio y por su capacidad de ser visibles al microscopio electrónico en preparaciones no teñidas. Se visualizan entre dos y siete gránulos densos por plaqueta, con un diámetro aproximado de 200 a 300 nm y presentan un cuerpo central denso rodeado por un halo claro. Se han desarrollado dos técnicas citométricas de observación al microscopio electrónico, una basada en la opacidad producida por el contenido de serotonina y la otra usando acetato de uranilo para marcar el contenido de ADP y ATP y visualizar las membranas de los gránulos. Los gránulos densos también pueden observarse por microscopía óptica de fluorescencia o por citometría de flujo utilizando la incorporación de cristales

fluorescentes derivados de la quinidina, como la mepacrina.

Contenido. Son organelas de almacenaje de serotonina, (un potente vasoconstrictor que, en un 90% de su concentración circulante, se encuentra unido a plaquetas), de cationes divalentes como Ca^{2+} y Mg^{2+} y de un *pool* no metabólico de ADP y ATP. La membrana posee varios receptores, algunos como la GP53 (granulofisina-CD63) y otros comunes al resto de las membranas tales como GPIIb/IIIa y P-selectina. Después de la activación, el contenido de los gránulos densos es secretado directamente por fusión con la membrana plasmática y las proteínas de membrana son translocadas a la superficie. Con la utilización de nuevas tecnologías (proteómica) se han reportado distintas proteínas, la mayoría están descritas en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Contenido de los gránulos densos

Categorías	Contenido de δ gránulo	Funciones
Señalización celular	Rho-GDP- inhibidor del dominio N terminal de calcio-calmodulina, 14-3-3 zproteína	Regulador de proteínas Rho, movilización y unión de calcio, activadores de Tyr 3-hidroxilasas, unión de proteínas a fosfatidilserina
Moléculas chaperones	Ciclofilina A, grp78, proteína heat shock 70 kDa, disulfuro-isomerasa	Facilitan el ensamble de proteínas multiméricas, actúan en unión de Ca^{2+} y ATP y catalizan uniones -S-S-
Citoesqueleto	β actina, α 1 actina, proteína asociada a adenenilatociclasa, cofilina 1, filamina A, precursor de gelsolin, kindin1, cadena liviana de miosina-2, pleckstrina, talina 1, transgelin 2, trombopoyetina cadenab, tropomiosina, vinculina,	Involucran movilidad celular, reciclan actina y cofilina, controlan la polimerización de actina, anclan proteínas de transmembrana a la actina, regulan cambio de forma y secreción, pueden ser sustratos de PKC en la reorganización del citoesqueleto, etc.

Categorías	Contenido de δ gránulo	Funciones
Glicólisis	Aldolasa, aenolasa 1, GAPDH, lactato dehidrogenasa B, piruvatocinasa	Convierte: F-1, 6-DP en GAP y DHAP, piruvato en GAP, GAP en 1,3 BPG, piruvato en lactato y fosfoenolpiruvato.
Relacionadas a la función plaquetaria	Precursor de beta-tromboglobulina, FXIII, precursor de la cadena alfa de fibrinógeno, región C de la cadena Ig gamma, factor plaquetario 4, glicoproteína II, precursores de proplaquetas, albúmina sérica, precursor de trombospondina-1	Neutralización de heparinas (asociada a α gránulos), cross-linking de las cadenas de fibrina, polimerización de fibrina, actúan como cofactor en la agregación y son receptores para fibrinógeno y fibronectina.

Lisosomas

Morfología.

Son gránulos pequeños con un diámetro inferior a 300 nm, poseen una estructura homogénea y se encuentran en número reducido. La función de las enzimas lisosomales durante la activación plaquetaria está dada por sus interacciones con la pared vascular y por la digestión de los componentes de la matriz subendotelial. Dentro de la plaqueta cumplen una función autofágica eliminando fragmentos citoplasmáticos. Distintas GPs, como las proteínas lisosomales asociadas a la membrana (LAMP-1, LAMP-2) y CD63, están presentes en la membrana lisosomal y son redistribuidas a la superficie después de la activación plaquetaria producida por estímulos fuertes como la trombina.

Peroxisomas

Además de los tres tipos de gránulos descritos, mediante técnicas citoquímicas se han observado actividades de peroxidasa y catalasa, lo que posiblemente indica la existencia de pequeños gránulos similares a los peroxisomas descritos en otros tipos celulares.

Citoesqueleto / proteínas motoras

El citoplasma está organizado espacialmente por una malla de proteínas estructurales llamada en su conjunto citoesqueleto, que está compuesta principalmente por tubulina y polímeros de actina; cumple una función dual, tanto estática como dinámica. Las plaquetas no estimuladas circulan en forma discoidea y cambian a esféricas cuando son activadas, lo que permite asegurar una función hemostática correcta. El citoesqueleto está formado por dos estructuras: un conjunto de microtúbulos cercano a la membrana y una malla densa de filamentos de actina.

Microtúbulos.

Están compuestos por moléculas de tubulina, que son heterodímeros relacionados a dos polipéptidos globulares; la α y β tubulina y están asociados con

proteínas motoras, tales como quinesina y dineína. La función de los microtúbulos está comprometida con el mantenimiento de la forma discoidea de las plaquetas en reposo. Durante el cambio de forma, los microtúbulos se contraen y centralizan las organelas de secreción en la cercanía del sistema canalicular. En paralelo, fragmentos de microtúbulos aparecen en la periferia celular formando pseudópodos. La malla de actina puede ser subdividida en dos componentes: el esqueleto submembranoso y los filamentos citoplasmáticos. Se encuentran debajo de la membrana plaquetaria o rodeando la banda de microtúbulos. Su función está relacionada con los cambios de forma de la plaqueta, el reordenamiento de complejos de GPs (Ib-IX-V) y la formación de pseudópodos.

La actina es el mayor componente del citoesqueleto y representa el 20% del contenido proteico plaquetario. Se distribuye en dos formas, la primera son monómeros globulares de actina (G-actina) y la segunda está formada por filamentos de actina (F-actina). Varias proteínas, GPs y GPs de trans-membranas (filamina A (ABP-280), talina, K-actina, miosina I y II) están asociadas a la malla citoplasmática de actina. Estas proteínas tienen como función la estabilización del esqueleto cuando las plaquetas están en reposo y favorecen el entrecruzamiento de las proteínas de membrana con la malla de actina.

Activación plaquetaria

Activación de la membrana plaquetaria

Una vez ocurrida la activación de las plaquetas, los constituyentes de la membrana plasmática comienzan a reorganizarse y a exponerse como superficies catalíticas para las proteínas plasmáticas: los fosfolípidos aniónicos cambian su posición asimétrica y son reorientados desde el interior a la capa externa para facilitar la formación del coágulo. El citoesqueleto se contrae en forma simultánea y la membrana plaquetaria cambia su forma, contribuyendo a la formación de pseudópodos.

Cambio de forma y agregación

Morfología.

Luego de la activación ocurrida frente a una injuria de la pared vascular o por la adhesión a un sustrato, las plaquetas sufren una serie secuencial de cambios morfológicos: forma esférica, adhesión por filopodios cortos y largos, adhesión por lamelopodios y finalmente, la consolidación completa de la adhesión. La prolongación de lamelopodios es posible por el reordenamiento del citoesqueleto y por un ensamble masivo de actina con fragmentación de la malla periférica de actina por plectrina. Los fragmentos resultantes de actina están unidos a la membrana por las conexiones ABP-GP Ib-/IX-V. Además de la formación de lamelopodios, las plaquetas activadas forman filopodios superficiales, que permiten la unión entre plaquetas y la formación de agregados sólidos. Estas proyecciones están contenidas por ramilletes de filamentos de actina largos y difieren de los que forman lamelopodios por no depender de la fragmentación.

Las diferentes estructuras participan en distintas funciones dentro de los procesos adhesivos: la formación de lamelopodios detiene el drenaje vascular adhiriéndose a la superficie injuriada y la formación de filopodios permite la unión a fibrina y a otras plaquetas para formar el coágulo plaquetario tridimensional. Finalmente, los cambios de forma son reconocidos por cuatro etapas claramente identificables:

- 1- Se despolimerizan los microtúbulos, se incrementa la cantidad de F-actina, se deforma la membrana plaquetaria, se originan los lamelopodios y finalmente éstos facilitan la adhesión entre ambos bordes de la injuria vascular.
- 2- Otras plaquetas son reclutadas, lo que permite consolidar la formación de la monocapa. Éstas son activadas a través de receptores G-heterotriméricos, lo que resulta en la activación de la integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ (señalización del interior al exterior), permitiendo la unión al fibrinógeno (señalización del exterior al interior) y la polimerización de la red de filamentos de actina. Finalmente, con la formación de numerosos filopodios, las plaquetas se agregan y se consolidan entre sí formando un espeso trombo plaquetario.
- 3- Las plaquetas se contraen a través de cordones de actina también llamados “fibras de tensión”, ancladas en las zonas de adhesión. Estas cuerdas

de actina se expanden y contraen, dando como resultado la secreción de moléculas pro-coagulantes y factores de crecimiento que contribuyen a la reparación de la injuria vascular.

- 4- Luego de la secreción, las plaquetas “exhaustas” incrementan pasivamente los agregados formados. La proteína P-selectina del gránulo α que se expresa durante la activación es blanco de las células polimorfonucleares y de los monocitos/macrófagos. Finalmente, estas células fagocíticas “limpian” la zona de los restos plaquetarios y de fibrina.

Receptores plaquetarios

La activación de los sitios de unión a ligandos en la GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) es producida por distintos mecanismos de señalización que se inician por la unión de agonistas a las proteínas G constituidas por siete segmentos transmembrana (STRs).

Muchos de estos agonistas provienen del contenido plaquetario: la serotonina, que estimula la plaqueta a través de un receptor de tipo 5-HT-2; el tromboxano A₂ (TxA₂), producto de la metabolización del ácido araquidónico (AA) que se une a un receptor específico de tromboxano (TP-1,-2) y el ADP liberado de los gránulos densos que se une principalmente a dos receptores de tipos P2Y1 y P2Y12.

Otros agonistas posibles son hormonas liberadas por otros tejidos, incluyendo la adrenalina (epinefrina), que se une a receptores plaquetarios adrenérgicos de tipo α_2 y la vasopresina proveniente de la hipófisis. Finalmente, la trombina corta a su receptor STR (receptor activador de proteasas, PAR 1,4) formando un nuevo péptido N-terminal que se unirá a la porción C-terminal del receptor.

Mecanismos intracelulares

Una de las respuestas tempranas dependientes de proteínas G es la activación de la fosfolipasa C-beta (PLC- β). Esta enzima es responsable de la hidrólisis del fosfatidil-inositol produciendo diacilglicerol, que activa una proteína quinasa C (PKC) que cataliza la fosforilación de proteínas, la secreción de gránulos y la expresión del receptor para fibrinógeno. Otro producto de la hidrólisis catalizada por la PLC es el inositol-fosfato, que se une al sistema tubular denso y estimula la liberación de Ca²⁺. Además, la fosforilación del fosfatidil-inositol en la porción D-3 del anillo de inositol producida por otra quinasa, la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K), es importante en

la regulación de la activación de la integrina $\alpha\text{IIb}\beta_3$. El segundo mecanismo involucra la vía de los eicosanoides. Se inicia por activación de fosfolipasa A2 (PLA2), que libera AA de los fosfolípidos de la membrana plaquetaria, lo que constituye el paso limitante para la síntesis de prostanooides y leucotrienos. El incremento intracelular de los niveles de Ca^{2+} mediado por IP3, está directamente relacionado con la activación plaquetaria, dado que muchas de las enzimas comprometidas en los mecanismos de transducción de señales, tales como PLA2, PLC y la quinasa de la cadena liviana de la miosina son dependientes de Ca^{2+} .

Nuevos mecanismos intracelulares

(LOS ESQUEMAS 1 Y 2 SON ADAPTACIONES DE LAS CITAS 5, 9 Y 11)

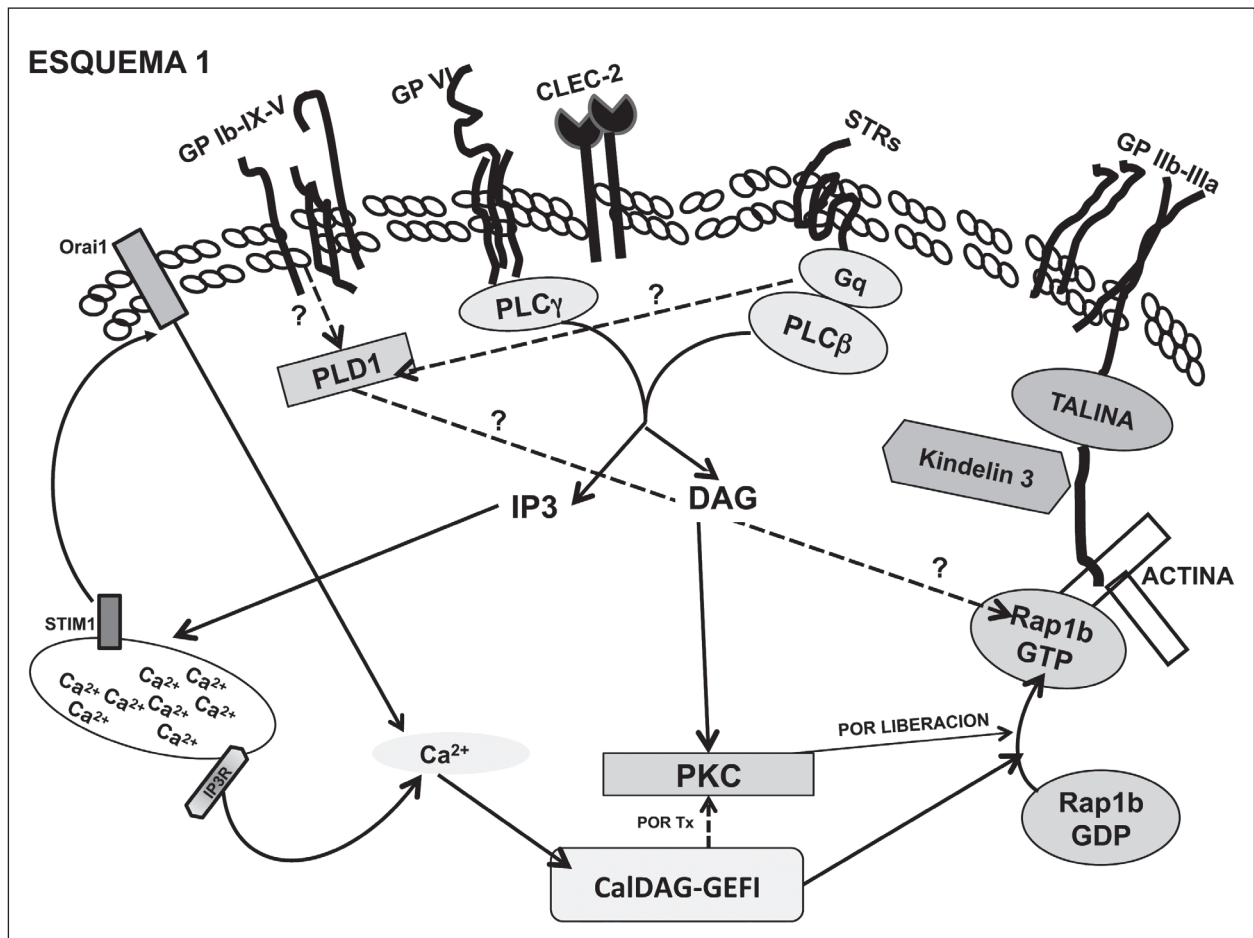
Vía Rap1b - CalDAG-GEFI (Ver esquema 1)

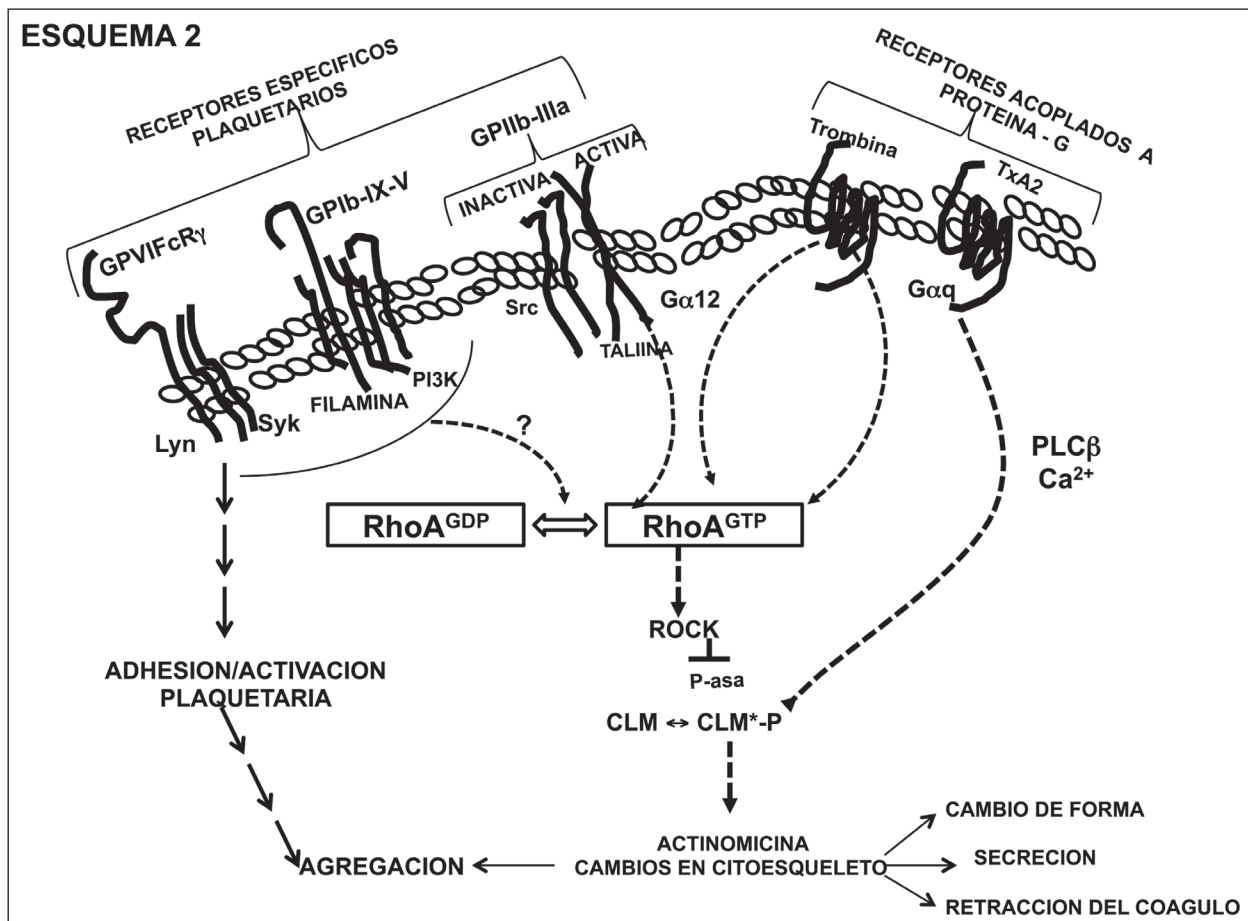
A pesar de la importancia primordial del Ca^{2+} como segundo mensajero, es poco lo que se conoce acerca de los mecanismos que regulan la fluctuación del calcio intraplaquetario. Recientemente se ha identificado una proteína Ca^{2+} sensible, llamada Cal-

DAG-GEFI (*Ca²⁺ and diacylglycerol regulated guanine nucleotide exchange factor 1*, Ca^{2+} y diacil glicerol reguladora del factor 1 del intercambio del nucleótido guanina).

CalDAG-GEFI controla la activación Rap1b, pequeña proteína unida a GTP que cumple un rol crítico en la activación de la integrina IIbIIIa y en la función plaquetaria.

CalDAG-GEFI media una activación rápida y reversible de Rap1b, en tanto que la activación lenta y sostenida, requerida para una activación completa de la integrina, es iniciada por PKC y dependiente del ADP liberado. Además, datos recientes demuestran que CalDAG-GEFI también participa en la activación de PKC vía Rap1b por un mecanismo dependiente de la generación de tromboxanos. En función de los hallazgos experimentales se ha propuesto un modelo de activación plaquetaria en el cual CalDAG-GEFI sería el nexo entre el Ca^{2+} , la generación de tromboxanos, la liberación del contenido granular y la activación de las integrinas.





Vía proteína Rho (Ver esquema 2)

En respuesta al daño vascular causado por *shear stress* o por otros factores protrombóticos se desencadena un proceso coordinado de activación intracelular que involucra a distintas proteínas de señalización. La adhesión/activación de los receptores específicos (GP IIb-IIIa, GP Ib-IX-V, GP VI) unidos o no a sus ligandos y de los receptores acoplados a proteína G (PAR1,4; TP α,β ; P2Y12), generan caminos de señalización complejos que finalizan con la respuesta plaquetaria (agregación/liberación) y en última instancia con su actividad procoagulante y protrombótica. Pleines, utilizando un modelo en ratones, identificó el rol funcional de la proteína RhoA en plaquetas, propuso un mecanismo por el cual los receptores asociados a las proteínas de señalización efectúan un proceso de regulación en la activación que conlleva a la formación del trombo. Este hallazgo favorece el conocimiento de los defectos plaquetarios provocados por la desregulación del mecanismo propuesto, dado que afectaría el tamaño, la forma, la cantidad y calidad de las plaque-

tas, provocando sangrado o trombosis.

Estos mecanismos descriptos y muchos otros son propuestos para interpretar los mecanismos de señalización, los nuevos enfoques que se están aplicando utilizan modelos matemáticos para ayudar la comprensión de la biología plaquetaria. Estos pueden tomar dos formas distintas: las que utilizan un enfoque de arriba hacia abajo “*top-down*”, por medio del cual se modelan las propiedades de sistemas complejos pero relativamente intactos; y aquellos que utilizan un enfoque “*reduccionista*”, con lo cual se modelan relativamente pocos aspectos de la señalización o función plaquetaria, pero en mayor detalle. Por ejemplo, el enfoque de “*top-down*” ha revelado detalles importantes de cómo los trombos de plaquetas se organizan en un “núcleo” denso y altamente activado de plaquetas que exponen PS. Los modelos reduccionistas, en cambio, se centran en la señalización de Ca²⁺, ya que es fácil de medir con alta resolución temporal y cuantificar, y es un punto de integración de la señal para muchas vías plaquetarias. Los modelos de Ca²⁺ han demostrado

ser útiles en la comprensión de cómo las plaquetas organizan eventos funcionales importantes, como la exposición a PS, en distintas subpoblaciones. El modelado de los procesos que regulan los niveles de Ca^{2+} citosólico ha proporcionado información sobre el mecanismo de entrada y liberación de Ca^{2+} de los depósitos del sistema tubular denso (DTS) y a través de receptores IP3. También, estos modelos matemáticos han ayudado a la comprensión de la regulación de quinasa corriente abajo de GPVI y el papel importante de las fosfatasa en la regulación negativa y en la modulación de la transducción de señales. Es importante destacar que estos complejos modelos matemáticos tendrán que ser validados por el uso de diferentes donantes de plaquetas, con el fin de reflejar la variabilidad en la respuesta de plaquetaria dentro de la población humana.

En resumen, la función plaquetaria involucra un conjunto de etapas, cambio de forma, secreción y activación de sitios de unión a ligandos en la integrina $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$, todas relacionadas al proceso de adhesión. El resultado final será la interacción plaqueta-plaqueta y la formación del tapón hemostático formado por los agregados plaquetarios. La consolidación del trombo requiere de la acción conjunta de dos receptores plaquetarios centrales, el GPIIb/IIIa y el GPIb-IX-V y de sus principales ligandos, el fibrinógeno y el VWF.

Bibliografía

1. Aslan JE, Itakura A, Gertz JM, McCarty OJ. Platelet shape change and spreading. *Methods Mol Biol.* 2012;788:91-100.
2. Nurden AT. Platelet Membrane Glycoproteins: A Historical Review. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40:577-584.
3. Cattaneo M. The platelet P2Y₁₂ receptor for adenosine diphosphate: congenital and drug-induced defects. *Blood.* 2011 Feb 17;117(7):2102-12.
4. Navarro-Nuñez L, Langan SA, Nash GB, Watson SP. The physiological and pathophysiological roles of platelet CLEC-2. *Thromb Haemost.* 2013;109(6):991-998.
5. Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, Du X. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(12):2341-9.
6. Blair P1, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009 Jul;23(4):177-89.
7. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015 May;29(3):153-62.
8. De Pascale MR, Sommese L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 2015 Jan;29(1):52-61.
9. Bergmeier W, Stefanini L. Novel molecules in calcium signaling in platelets. *J Thromb Haemost.* 2009 Jul;7Suppl 1:187-90.
10. Hagedorn I, Vögtle T, Nieswandt B. Arterial thrombus formation. Novel mechanisms and targets. *Hämostaseologie.* 2010; 30: 127-35.
11. Pleines I, Elvers M, Strehl A et al. Rac1 is essential for phospholipase C-gamma2 activation in platelets. *Pflügers Arch.* 2009 Mar;457(5):1173-85.
12. Nurden AT. Thrombus stability on the vessel wall. *Blood.* 2008; 112: 4-5.
13. Bye A.P, Unsworth AJ, and Gibbins JM. Platelet signaling: a complex interplay between inhibitory and activatory networks. *J Thromb Haemost.* 2016 May; 14(5): 918-930.